

審査の結果の要旨

氏名 杉山 暁

アテローム性動脈硬化は脳血管障害や虚血性心疾患の原因として世界の多くの国で成人死因の上位をしめる重要な疾患である。アテローム性病変の成因には血液中のコレステロール特に低比重リポ蛋白 (LDL) コレステロールが高値であることが重要であることが知られる。本論文著者らは、アテローム成因解明の *in vitro* モデル混合培養系の開発を進め、血管内皮細胞と平滑筋細胞の混合培養系での実験から LDL 負荷だけではアテローム性病変形成は進まず、それに加える何らかの「アテローム誘発因子」が必要であるとの作業仮説にいたった。

本論文で著者らは、血管壁の生理的条件の検討から、従来の 20% 酸素分圧のモデルと比べ、血管壁の酸素分圧が 2-6% と低値であることに注目し、低酸素での混合培養系を作成して脂質沈着の条件を検討した。その結果 2-5% の低酸素条件で LDL 負荷を加えると顕著な脂質沈着が血管平滑筋細胞におこることをウサギ動脈壁細胞の混合培養系で発見し、さらにヒト冠状動脈平滑筋細胞の単独培養系でも同じ条件で脂質沈着が促されることを発見し、低酸素が「アテローム誘発因子」の一つであることを発見した。

本論文で著者らは、LDL 負荷と低酸素による平滑筋細胞における脂質沈着が LDL 受容体に依存しない脂質取り込みによりおこることを確認した。しかし、低酸素がなぜ LDL 負荷に加えてのアテローム誘発因子になりうるかの機序は全く不明であった。

そこで著者らは、ゲノム解読から急速に進展してきた遺伝子発現の網羅的解析、DNA マイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析を行い、5800 の既知重要遺伝子の発現解析から、アテローム形成における LDL 負荷と低酸素の影響を検討した。その結果、脂質沈着にかかわるアディポフィリンとレプチン遺伝子がこの 2 条件の組み合わせで顕著に発現誘導されることを発見した。その他にも成長因子、マトリックス蛋白、シグナル伝達関連蛋白など多数の遺伝子誘導を DNA チップで発見し、ノーザン解析で確認した。

脂質関連遺伝子の誘導機構の解析のためレプチン遺伝子プロモーターにおいて、低酸素での誘導にかかわるエレメントの同定を培養平滑筋細胞で行い、-116 の HRE が重要であり、発現解析からここに HIF1 が作用することが重要であることが示唆された。

以上のように本論文で著者らはアテローム性病変における脂質沈着誘発因子として低酸素が重要な役割を果たす事、その課程でレプチンとアディポフィリン遺伝子発現が誘導されること、この誘導に HRE が重要で HIF1 がかわる可能性を明らかにし、動脈硬化発症機序解明に重要な知見をもたらした。

よって本論文は博士 (学術) の学位請求論文として合格と認められる。